

# LED 조명을 이용한 광생물 반응기에서 공기 주입량에 따른 클로렐라 성장 연구

최보람, 이태윤\*

## Cultivation of *Chlorella* sp. under Different Aeration Conditions Illuminated by Light Emitting Diode

Bo-Ram Choi and Tae-Yoon Lee\*

접수: 2012년 8월 14일 / 게재승인: 2012년 8월 27일  
© 2012 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

**Abstract:** The purpose of this study was to determine optimum value of aeration rate for the cultivation of *Chlorella* sp. under illumination of red light emitting diode. The aeration rates varied from 0 to 2.4 vvm under the illumination of 4,400 lux of red light emitting diode. The highest specific growth rate of  $1.51 \text{ day}^{-1}$  was obtained at the aeration of 0.7 vvm and lower specific growth rates were obtained for other aeration tests. Furthermore, the highest biomass concentration (1.02 g/L) was also obtained at the aeration of 0.7 vvm. Therefore, aeration of 0.7 vvm was determined to be the optimum aeration rate for the cultivation of *Chlorella* sp. under red light emitting diode.

**Keywords:** Red light emitting diode, Photo-bioreactor, *Chlorella* sp., Aeration, Biomass

### 1. 서론

인간 활동의 영향으로 지구온난화 및 화석연료 고갈이라는 환경문제가 대두됨에 따라 이를 대체하기 위한 신재생 에너지로서 바이오 연료가 각광받고 있다 [1,2]. 또한 산업체 배기가스로부터 이산화탄소를 고정화하는데 적합한 미세조류

(microalgae)를 개발하기 위한 연구가 활발히 수행되고 있다 [3-5]. 미세조류를 이용한 이산화탄소의 고정 및 바이오디젤의 생산은 기후변화와 고유가로 대변되는 환경 및 자원 위기를 효과적으로 해결하기 위한 가장 현실적인 대안으로 떠오르고 있다.

미세조류는 광합성 색소를 가지고 있어 태양광을 에너지원으로 사용하여 이산화탄소를 고정화하는 기능을 가지고 있는 광독립영양생물이다. 최종 산물인 biomass를 동물 사료나 바이오 연료로 재사용함으로써 이산화탄소 저감과 대체연료 생산이라는 장점을 가지고 있다 [6-9]. 또한 미세조류는 태양광과 이산화탄소 등을 이용하여 비교적 적은 비용으로 대량 배양이 가능하며, 극한 환경에서도 성장이 가능하고, 환경조건에 따라 큰 증식력을 가지고 있다 [10]. 또한 미세조류는 이산화탄소 제거뿐만 아니라 질소 또한 고정화 할 수 있다. Kim 등 [11]의 경우 미세조류를 이용하여 폐수내의 질소를 제거하기 위한 폐수처리 장치의 개발에 대해 연구하였다. 미세조류의 광생물적 반응을 위해 광생물반응기를 이용하는데, 고농도의 미세조류 배양을 위한 효율적인 광생물 반응기의 설계를 위해서는 빛이나 기체 (이산화탄소, 산소)전달, 배지 성분의 유지, 불필요한 이차대사물질의 축적이나 상호간섭 등의 생물적, 공간적 제한 요소들이 중요한 조건이 된다.

개방형 혹은 밀폐형 미세조류의 광배양 시스템에 있어 광원 및 광세기는 미세조류의 광합성 성장에 있어 가장 중요한 인자로 인식되고 있는데, 개방형 배양의 경우 태양광이 가장 일반적인 광원이나 밀폐형 배양의 경우에는 형광등이 가장 많이 사용된다 [12]. 조류 배양 공정을 효율화하기 위해서는 생물반응기내로의 효과적 광 전달 문제가 해결되어야 하는데, 일반적으로 생물반응기에서는 배양액 표면에 조사

부경대학교 환경공학과  
Department of Environmental Engineering, Pukyong National University, Busan 680-737, Korea  
Tel: +82-51-629-6530, Fax: +82-51-629-6523  
e-mail: badger74w@pknu.ac.kr

된 빛에너지가 배양액 내부로 갈수록 고농도의 세포로 인하여 급격한 광도 손실을 일으키며, 광합성에 사용되지 않은 빛에너지가 열에너지로 전환되어 생물반응기의 온도를 상승시키게 된다 [13]. 형광등은 높은 유지비용 및 과도한 발생열로 인해 최근 광원으로 연구되는 발광다이오드(LEDs), 광섬유(Optical fiber)에 비해 배양효율 및 경제성이 낮은 것으로 인식되고 있다 [14]. 이중 발광다이오드(LEDs)는 해당 미세조류의 광합성에 필요한 파장의 빛만 선택적으로 공급하여 전체적인 빛의 이용효율성을 높일 수 있다. Wang 등 [15]의 경우 적색 LED(파장 660 nm)를 이용하여 *Spirulina platensis*에 대해 높은 배양효율을 보여주었으며, *H. phuvialis*의 경우에는 청색 LED(파장 460 nm) 사용 시 astaxanthin의 생산효율이 증가하는 것이 확인되었다 [16].

생물반응기에서 혼합은 필수적인데 적당한 혼합은 세포들을 부유 상태로 유지시켜 줄 뿐만 아니라 온도 구배나 농도 구배를 최소화 시켜준다. 또한 그림자 효과를 줄일 수 있고 높은 광도에서 광 저해를 최소화 할 수 있어 더욱 중요하다. 빛의 투과가 어려운 고농도 배양 시 빛에 노출되는 세포의 분율을 높여 빛의 투과 깊이를 증가시킨다. 즉 적당한 혼합은 총괄 광자 이용률을 증가시킬 수 있다. 혼합의 방법 중 sparging은 공기방울의 존재가 빛이 생물 반응기 깊숙이 전달될 수 있게 해주며 방울의 상승작용이 유체의 흐름과 수직 방향으로의 혼합을 유도해 그림자 효과를 줄일 수 있는 가장 좋은 방법 중의 하나이다 [17].

따라서 본 연구에서는 공기를 이용하여 배지의 혼합을 용이하게 함으로써 클로렐라의 성장에 필요한 빛의 이용율을 높이고자 하였다. *Chlorella* sp. 배양에서 sparging(공기 방울을 주입함으로써 혼합을 유도하는 것)의 효과와 다양한 공기 공급 속도가 *Chlorella* sp. 성장에 어떠한 영향을 미치는지 알아보았으며, 너무 강한 혼합은 세포를 해치므로 실험에 의하여 적절한 혼합을 위한 공기 공급 속도를 알아보았다. 또한 *Chlorella* sp. 성장에 따른 질소, 인 등의 영양염류 제거율과 영양염류가 조류의 성장에 미치는 영향을 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 사용 균주 및 배지

본 연구에 사용된 미세조류는 *Chlorella* sp. FC-21로 한국 해양 미세조류은행(KMMCC, Korea)로부터 분양받았다. 사용된 배지는 Table 1에 나타난 바와 같은 성분의 JM배지(Jaworski's Medium)를 조제하여 121°C에서 15분간 멸균하여 사용하였다.

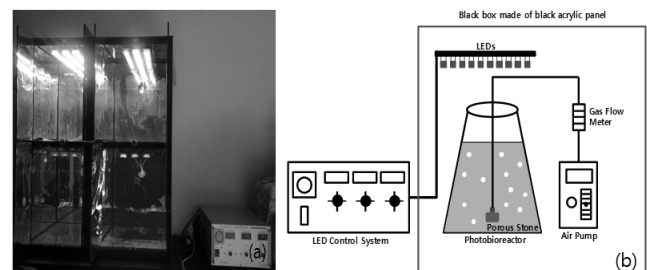
### 2.2. 실험 장치

*Chlorella* sp. FC-21의 성장실험은 공기 공급 속도에 따른 성장 속도를 비교하기 위해서 에어 펌프를 이용하여 공기의 공급 속도를 0.0 vvm~2.4 vvm의 범위로 달리하였다. 광원으로는 660 nm 파장으로 발광하는 적색 LED를 사용하였는데 이는 Lee 등 [18]의 연구에서 클로렐라의 배양효과가 적색 LED를 사용하였을 때 가장 우수하다고 보고하였기 때문이다. 반응

기는 가로 60 cm, 세로 60 cm, 높이 30 cm의 크기로 반응시스템을 제작하였으며, LED 램프는 S-tech LED사로부터 bar 형식의 LED램프를 구입하여 실험하였다. 광원은 반응기의 상부에 설치하여 위에서 아래로 광을 공급하였다. 광량 및 조도는 116  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , 4,400 Lux로 하였으며, 조도계(I-346 Illuminometer, Sekonic Co., Philippines)와 광량계(MQ-306, Apogee Instruments Inc., Logan, UT)를 사용하여 측정하였다.

**Table 1.** The composition Jaworski's medium (Unit: mg/L deionized water)

Components	Contents
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	20
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	12.4
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	50
NaHCO <sub>3</sub>	15.9
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12H <sub>2</sub> O	36
NaNO <sub>3</sub>	80
EDTA FeNa	2.25
EDTANa <sub>2</sub>	2.25
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.48
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	1.39
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O	1.00
Cyanobalamin	0.04
Thiamine HCl	0.04
Biotin	0.04



**Fig. 1.** Photograph (a) and schematic diagram (b) of photo-reactor illuminated by LEDs.

### 2.3. 미세조류 배양 방법 및 농도 측정

*Chlorella* sp. FC-21의 성장특성 연구에서 전배양은 50 mL의 JM배지가 함유된 100 mL 삼각 플라스크에 21~23°C, 3000 Lux, 공기 주입은 하지 않은 조건에서 수행되었으며, 계대배양은 일주일 간격으로 수행하였다. 본배양은 500 mL 코니칼 비이커를 사용하여 전배양된 현탁액을 계획한 초기 농도(2.0 × 10<sup>5</sup> cells/mL)로 맞춘 후 과파필름을 이용해 비커의 입구를 막은 후 미세 구멍을 뚫어 주었다. 공기 공급 속도에 따른 성장 속도를 비교하기 위하여 반응기의 바다 부분에 산기석(porous stone)을 고정시켜 에어펌프를 조정하여 공급 속도를 조절하였다. 외부로부터 오염을 최소화하기 위하여 에어펌프와 산기석을 연결시켜주는 실리콘 튜브에 필터를 장착하였으며, 배양 중 발생할 수 있는 미생물의 오염여부는 현미경으로 조사하였다. 온도조절은 실험실에 설치된 온도 조절장치를 이용하여 반응기의 온도를 21~23°C로 일정하게 유지하였다. 배양액의 온도는 수온도계를 이용하여

**Table 2.** The biomass production and the specific growth rate of *Chlorella* sp. FC-21 under different air flow rates

Test Set	LEDs	Air flow rate (vvm)	Light Intensity		Specific growth rate (day <sup>-1</sup> )	Initial cell concentration (cells/mL)	Maximum cell concentration (cells/mL)
			Lux	μmol/m <sup>2</sup> /s			
1	RED	0 (no aeration)	4400	116	0.61	2.0 × 10 <sup>5</sup>	4.3 × 10 <sup>6</sup>
2	RED	0.2	4400	116	0.78	2.0 × 10 <sup>5</sup>	2.3 × 10 <sup>7</sup>
3	RED	0.7	4400	116	1.51	2.0 × 10 <sup>5</sup>	5.1 × 10 <sup>7</sup>
4	RED	1.2	4400	116	1.11	2.0 × 10 <sup>5</sup>	4.8 × 10 <sup>7</sup>
5	RED	2.4	4400	116	1.37	2.0 × 10 <sup>5</sup>	4.7 × 10 <sup>7</sup>

측정하였다.

세포의 성장은 hemocytometer를 이용하여 도립현미경 (AE2000, Motic, China)을 통해 직접 계수하였다. Cell counting은 일정량의 세포 부유액을 눈금 안에 보이는 cell 수를 현미경으로 측정하여 단위 부피당 세포 수 (cells/mL)를 계산하는 방법이다. 일정 시간 간격으로 배양액 10 μL를 취해서 3회 반복한 평균값으로 세포 수를 구하였다. 균체 건조량과 세포농도와의 상관관계를 조사하기 위해 균체 건조량 (g/L)은 50 mL의 배양액을 0.45 μm의 membrane filter로 여과한 후 80°C에서 24시간 건조한 후 무게차를 측정하였다. 그 결과, 균체 건조량 = 0.00000002 × 세포농도 (상관관계 = 0.99)의 관계를 얻었다.

#### 2.4. 질소 및 인 농도 측정

배지 내 *Chlorella* sp. FC-21의 성장에 필요한 성분인 질소와 인의 농도 변화를 분석하기 위해 COLORIMETER (DT/870, Hach, USA)를 사용하여 분석하였다. 질소 측정에서는 배지의 질소원으로 nitrate가 사용되었으므로 NO<sub>3</sub>-N (method 10020 : Hach DR/870 handbook의 procedure identification number)를 측정하였고, 인의 경우 phosphate가 사용되었으므로 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (method 8114 : Hach DR/870 handbook의 procedure identification number)을 측정하였다. NO<sub>3</sub>-N와 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>의 측정 시 각각의 측정 농도는 0~30.0 mg/L와 0~45.0 mg/L였고, 오차 범위는 ±0.5 mg/L와 ±0.1 mg/L였다.

#### 2.5. 최대 비증식 속도 계산

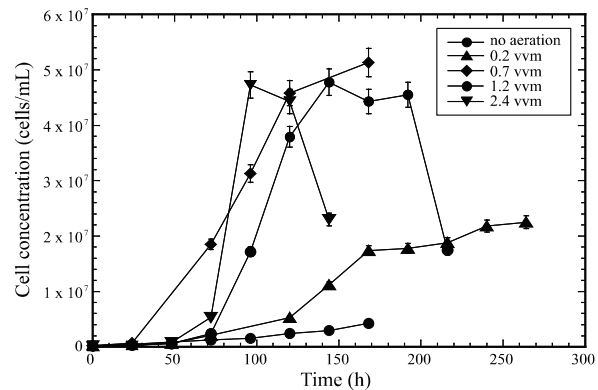
주어진 공기 공급 조건에서의 *Chlorella* sp. FC-21의 최대 비증식속도 (specific growth rate)는 다음의 식으로 계산하였다.

$$\mu_{\max} = (\ln x/x_0) \cdot t^{-1} \quad (1)$$

여기서, Ln은 log<sub>e</sub> (natural logarithm), μ<sub>max</sub>는 최대 비증식속도 (day<sup>-1</sup>), x<sub>0</sub> 및 x는 초기 (t=0) 및 일정 배양 시간 후의 *Chlorella* sp. FC-21의 최대 농도 (cells/mL), 그리고 t는 배양 시간 (day)을 나타낸다.

### 3. 결과 및 고찰

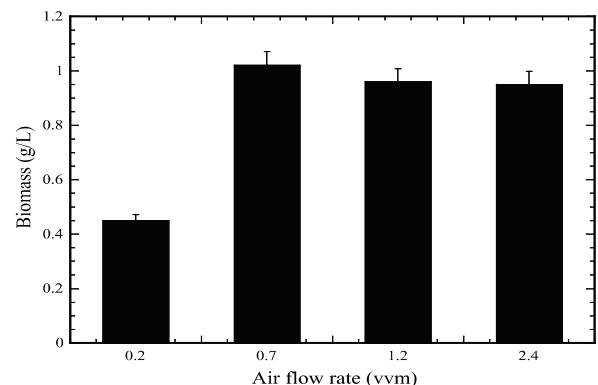
조도 4,400 lux에서 공기 공급 속도를 0~2.4 vvm의 범위로 달리하여 실험하였으며, *Chlorella* sp.의 증식 곡선은 Fig. 2에 나타나있다.



**Fig. 2.** Growth curves of *Chlorella* sp. FC-21 in a photo-reactor with different air flow rates.

최대 비증식속도 (day<sup>-1</sup>)는 공기 공급 속도가 0.7 vvm일 때 1.51 day<sup>-1</sup>로 가장 컸으며, 공기를 주입하지 않았을 때 0.61 day<sup>-1</sup>, 0.2 vvm일 때 0.78 day<sup>-1</sup>, 1.2 vvm일 때 1.11 day<sup>-1</sup>, 2.4 vvm일 때 1.37 day<sup>-1</sup>이었다 (Table 2).

최대 균체 농도 (g/L) 또한 Fig. 3에서와 같이 0.7 vvm일 때 1.02 g/L로 가장 높았으며, 1.2 vvm일 때 0.96 g/L, 2.4 vvm일 때 0.95 g/L, 0.2 vvm일 때 0.45 g/L, 공기를 주입하지 않았을 경우 0.09 g/L였다. 공기 공급 범위 중 다른 공기 공급 속도보다 비교적 낮은 0.2 vvm일 경우 혼합에 의한 효과가 비교적 적어 0.7 vvm에서의 최대 균체 농도보다 2배 이상 낮은 것을 알 수 있었으며, 공기의 공급을 전혀 해주지 않은 경우 10배 이상 낮은 것을 알 수 있었다. 이는 그림자 효과 (mutual shading)에 의해 빛이 효과적으로 전달되지 않았기 때문으로 판단된다.



**Fig. 3.** Maximum biomass obtained from the tests under different air flow rates.

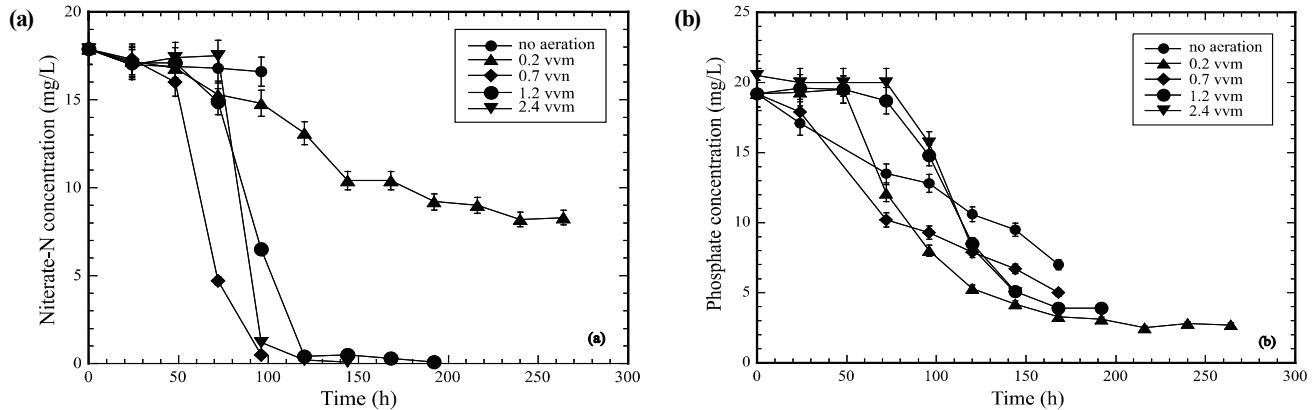


Fig. 4. Changes of Nitrate (a) and phosphate (b) concentrations of the tests under different air flow rates.

공기 공급 속도가 2.4 vvm과 1.2 vvm일 경우 배양 3일 후에 *Chlorella* sp.의 성장이 급격하게 증가하였다. 그러나 Fig. 4와 같이 JM배지의 초기 영양염류 측정 농도는 nitrate-N의 경우 17.9 mg/L, phosphate의 경우 19.2 mg/L이며 *Chlorella* sp.가 급격하게 증가한 3일 후부터 급격하게 소비되어 4~5일 이내에 nitrate-N가 모두 소비되었다. 이와 같이 세포 농도의 급격한 증가에 따른 영양염류의 소비 및 결핍 [19]과 고농도의 세포 [20]로 인한 광도 손실에 의하여 공기 공급 속도가 2.4 vvm일 경우 배양 5일, 1.2 vvm일 경우 8일 후 균체 농도가 급격히 감소하였다. 또한 Fig. 2에서 볼 수 있듯이 공기 공급 속도가 빠를수록 최대 농도 도달 후 균체 농도의 감소 속도가 빠르다는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과들로부터, 혼합 (mixing)은 광생물반응기에서 매우 중요한 인자이며, 광합성의 유일한 탄소원인 공기 중에 포함된 이산화탄소의 공급, 그리고 공기방울의 상승작용이 유체의 흐름과 수직 방향으로의 혼합을 유도해 세포가 고농도로 성장함에 따라 세포 상호간에 빛을 가리게 되는 그림자 효과 (mutual shading)를 줄임으로써 균체 농도를 상승시키는데 긍정적인 효과를 나타냄을 알 수 있었다 [17,21]. 그러나, 심한 혼합을 할 경우 *Chlorella* sp.를 손상시킬 수 있는데, 본 실험에서 공급 속도에 따른 비성장속도 및 최대 세포 농도를 비교하여 볼 때 (Table 2), 운전용량이 500 mL 이상일 경우 공기 공급 속도가 2.4 vvm 이하에서는 반응기와 공기 방울 사이의 마찰로 인한 *Chlorella* sp.의 물리적 손상을 입히지 않는다는 것을 알 수 있었다. 이는 Lim 등 [22]의 연구 결과와도 잘 일치한다.

또한, 공급속도 0.7 vvm과 1.2 vvm, 2.4 vvm에서의 비성장속도 및 최대 균체농도를 비교해 보았을 때, 큰 차이는 보이지 않았지만, 경제적 측면에서 공기 공급 속도에 따른 에너지 투입에 소모되는 비용을 고려해 볼 때에도 *Chlorella* sp. FC-21의 배양에 있어서 0.7 vvm의 공급 속도가 가장 경제적이고 효율적인 공기 공급 속도인 것을 알 수 있었다.

#### 4. 결론

본 연구에서는 *Chlorella* sp. FC-21의 고농도 배양을 위하여

sparging에 따른 혼합효과와 효율적인 공기 공급 속도를 선정하고자 하였다. 공기를 주입하지 않은 경우와 다양한 공기 공급 속도 (0.2 vvm, 0.7 vvm, 1.2 vvm, 2.4 vvm)의 조건에서 비성장속도는 0.7 vvm의 공급 속도 ( $1.51 \text{ day}^{-1}$ )에서 가장 높았다. 0.7 vvm에서의 비성장속도는 공기를 주입하지 않은 경우 ( $0.61 \text{ day}^{-1}$ )와 공기 공급 속도가 0.2 vvm ( $0.78 \text{ day}^{-1}$ )인 경우보다 2배 이상 높은 것을 관찰할 수 있었다. 균체농도 또한 0.7 vvm ( $1.02 \text{ g/L}$ )에서 가장 높았으며, 공기를 주입하지 않은 경우 ( $0.09 \text{ g/L}$ )보다 10이상 높은 농도를 얻었다. 이는 sparging에 따른 혼합 효과가 총괄 광자 이용률을 높여 주고, 공기 방울의 상승작용에 의하여 그림자 효과를 줄여 줌으로써 배양 효율이 증가하는 것을 알 수 있었다. 따라서 미세조류 배양에 있어 공기공급은 중요한 제한 인자인 것으로 판단된다. 또한, biomass는 0.7 vvm, 1.2 vvm, 2.4 vvm의 공급 속도에서 비슷하였지만 공기 공급 속도에 따른 에너지 투입에 소모되는 비용을 고려해 볼 때에도 0.7 vvm의 공기 공급 속도가 경제적이며 효율적인 공급 속도인 것으로 판단된다.

#### 사사

이 연구는 지식경제부 산업원천기술개발사업 (과제번호: 10037416, 해양 LED 융합기술지원 기반구축 및 상용화 기술개발)으로 지원된 연구입니다.

#### References

- Kim, Y. S., J. S. Kim, and S. Kim (2008) Status and prospect of biodiesel as a renewable energy in Korea. *KIC News* 11: 1-10.
- Seo, Y. W. (2008) Recent status and prospect of hydrogenated biodiesel production. *KIC News* 11: 35-45.
- Hamagata, N., T. Takeuchi, Y. Fukuju, D. J. Barnes, and I. Karube (1992) Tolerance of microalgae to high  $\text{CO}_2$  and high temperature. *Phytochem.* 31: 3345-3348.
- Hamasaki, A., N. Shioji, Y. Ikuta, Y. Hukuda, T. Makita, K. Hirayama, H. Matuzaki, T. Tukamoto, and S. Sasake (1994) Carbon dioxide fixation by microalgae photosynthesis using actual flue gas. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 45: 799-809.

5. Laws, E. A. and L. Berning (1991) A study of the energetics and economics of microalgal mass culture with the marine chlorophyte *Tetraselmis suecica*: Implications for use of power plant stack gases. *Biotech. Bioeng.* 37: 936-947.
6. Joen, S. M., I. H. Kim, J. M. Ha, and H. Lee (2008) Overview of technology for fixation of carbon dioxide using microalgae. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* 19: 145-150.
7. Karube, I., T. Takeuchi, and J. Barnes (1992) Biotechnological reduction of CO<sub>2</sub> emissions. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 46: 63-79.
8. Shon, Y. H., K. S. Nam, and K. Kim (2004) Cancer chemopreventive potential of *Scenedesmus* cultured in medium based on swine wastewater. *J. Microbiol. Biotechnol.* 14: 158-161.
9. Stauber, J. L. (1998) Toxicity of chlorate to marine microalgae. *Aquat. Toxicol.* 41: 213-227.
10. Radmer, R. J. (1996) Algal diversity and commercial algal products. *Bioscience* 46: 263-270.
11. Kim, H. N., W. S. Lee, and G. Lee (2004) Size estimation of microalgal system for nitrogen removal. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 19: 236-240.
12. Mata, T. M., A. A. Martins, and N. S. Caetano (2010) Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renew. Sust. Energ.* 14: 217-232.
13. Matsunaga, T., H. Takeyama, H. Sudo, N. Oyama, S. Ariura, H. Takano, M. Hirano, J. G. Burgess, K. Sode, and N. Nakamura (1991) Glutamate production from CO<sub>2</sub> by marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. using novel biosolar reactor employing light diffusing optical fibers. *Biochem. Biotechnol.* 28-29: 157-167.
14. Chen, C. Y., G. D. Saratale, C. M. Lee, P. C. Chen, and J. S. Chang (2008) Phototrophic hydrogen production in photobioreactors coupled with solar-energy-excited optical fibers. *Int. J. Hydrogen Energ.* 33: 6878-6885.
15. Wang, C. Y., C. C. Fu, and Y. C. Liu (2007) Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. *Biochem. Eng. J.* 37: 21-25.
16. Katsuda, T., A. Labappour, K. Shimahara, and S. Katoh (2004) Astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis* under illumination with LEDs. *Enzyme Microb. Technol.* 35: 81-86.
17. Lee, C. G. and O. Palsson (1994) High density algal photobioreactors using light emitting diodes. *Biotech. Bioeng.* 44: 1161-1167.
18. Lee, T., B. Choi, J. Lee, and J. Lim (2011) Cultivation of *Chlorella* sp. using light emitting diode. *J. Korea Environ. Eng.* 33: 591-597.
19. Yun, Y. S. and J. M. Park (1997) Development of gas recycling photobioreactor system for microalgal carbon dioxide fixation. *Kor. J. Chem. Eng.* 14: 297-300.
20. Lee, J., T. Kwon, K. Baek, and J. Yang (2005) Biological fixation of CO<sub>2</sub> by *Chlorella* sp. HA-1 in a semi-continuous and series reactor system. *J. Microbiol. Biotechnol.* 15: 461-465.
21. Ichimi, K., S. Meksumpun, and S. Montani (2003) Effects of light intensity on the cyst germination of *chattonella* sp. (Raphidophyceae). *Plankton Biol. Ecol.* 50: 22-24.
22. Lim, J. T., M. G. Cho, and H. Han (1998) Optimal culture conditions for marine *Chlorella* in a vertical tubular photobioreactor system. *J. Korean Fish. Soc.* 31: 139-142.